



EliZyme™ HIFI

Účel použití:

Produkt je určen pouze pro vědecké účely, nikoliv pro diagnostické procedury.

Skladování:

Skladujte při -20 °C a vyhněte se dlouhotrvajícímu vystavování světelnému záření. Při dodržení těchto skladovacích podmínek si kity plně udrží svou aktivitu, dokud neuběhne expirační doba uvedená na kitu. Při 4 °C mohou být reagentie skladovány až jeden měsíc.

Popis produktu

EliZyme™ HIFI je high-fidelity DNA polymeráza odvozená od Pfu DNA polymerázy, která je známá svou proofreading aktivitou při PCR. Polymeráza byla upravena pomocí patentovaných bodových mutací, které výrazně zlepšují její výkonnost ve srovnání s její nativní formou. To společně s pokročilou chemií pufrů zajišťuje robustní a spolehlivou high-fidelity PCR. Zesílená vazba polymerázy na DNA umožňuje lepší procesivitu, což vede ke zvýšení výtěžnosti a zkrácení doby cyklování.

EliZyme™ HIFI polymeráza účinně minimalizuje inhibici PCR z nečistých vzorků při PCR kolonií či přímé PCR ze surových vzorků. Je vhodná pro rutinní PCR aplikace, včetně amplifikace DNA pro Sangerovo sekvenování, genotypizování, screening a konstrukci knihoven. Polymeráza dosahuje mimořádných výsledků i u složitých templátů bohatých na GC a AT úseky.

Jednou z hlavních výhod polymerázy EliZyme™ HIFI je její nízká chybovost, která je 50 krát nižší než u Taq DNA polymerázy (1 chyba na $1,5 \times 10^7$ začleněných nukleotidů). Tato high-fidelity polymeráza má zvýšenou úspěšnost PCR s amplikony o velikosti až 10 kb, takže je vhodná pro širokou škálu PCR aplikací vyžadujících vysokou přesnost a amplifikaci dlouhých templátů.

Obsah

	Kat. číslo	Obsah balení	Velikost balení
EliZyme™ HIFI	EZ2102	1×0.1 ml 2 U/μl + 3×1 ml buffer	200 U
	EZ2110	4×0.125 ml 2 U/μl + 2×7.5 ml buffer	1000 U

	Pufr/MIX	Obsah
EliZyme™ HIFI	5X buffer	15 mM MgCl ₂ , 5 mM dNTPs



Doplňkový $MgCl_2$ není nutný. Složení pufru bylo optimalizováno pro maximalizaci úspěšnosti PCR.

Primery

Primery by měly mít teplotu tání okolo 60 °C. Zároveň by měly být navrhovány s ohledem na eliminaci tvorby primer-dimer komplexů a nespecifických produktů. Výsledná koncentrace primerů v reakci by se měla pohybovat mezi 0,2 μM a 0,6 μM .

PCR

Pro experimentální stanovení optimální teploty annealingu doporučujeme provést teplotní gradient. Případně doporučujeme teplotu annealingu 57 °C a pokud jsou přítomny nespecifické produkty, teplotu zvyšovat v krocích po 2 °C.

Optimální extenze je dosažena při teplotě 72 °C. Optimální doba extenze závisí na délce ampikonu a složitosti templátu. Pro amplifikaci z eukaryotické genomové DNA nebo cDNA se doporučuje 30 sekund na kilobázi (kb).

Složení reakční směsi

Před použitím musí být 5X EliZyme™ Reaction Buffer rozmražený, krátce promíchaný a stočený.

Komponenty	50 µl reakce	Finální konc.
5X EliZyme™ Reaction Buffer	10 µl	1×
Forward primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Reverse primer (10 µM)	2 µl	400 nM
Templátová DNA	< 500 ng genomické DNA, < 100 ng cDNA	variabilní
EliZyme™ HIFI Polymerase (2 U/µl)	0,5 µl	
PCR voda	Doplnit do 50 µl	

PCR protokol

Krok	Teplota	Čas	Cykly
Iniciace denaturace	95 °C	1 min	1
Denaturace	95 °C	15 s	25 - 35
Annealing	55 – 65 °C	15 s	
Extenze	72 °C	30 s/kb	



Výrobce:

ELISABETH PHARMACON, spol. s r. o.

Rokycanova 4437/5, Brno-Židenice 615 00

info@elisabeth.cz | www.elisabeth.cz | tel.: +420 542 213 851



Katalogové číslo



Číslo šarže



Datum expirace



Skladovací podmínky (teplotní limity)



Výrobce



Počet reakcí v balení